

УДК 579+616.34

А.П. Левицкий¹, В.В. Вит², Ю.В. Цисельский³, И.А. Селиванская¹

¹Институт стоматологии АМН Украины, ул. Ришельевская, 11, Одесса, 65026, Украина, тел.: +38 (048) 728 24 61, e-mail: stomat@paso.net

²Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В.П.Филатова АМН Украины, Французский б-р, 49/51, Одесса, 65061, Украина

³Одесская областная клиническая больница МОЗ Украины, ул. Заболотного 26/32, Одесса, 65025, Украина, тел.: +38 (048) 755 83 93

ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛІСАХАРИДА *ESCHERICHIA COLI* НА СТЕПЕНЬ КИШЕЧНОГО ДИСБІОЗА И НА СОСТОЯНИЕ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА КРЫС

Введение крысам липополисахарида (ЛПС) E. coli в дозах 6,6 или 200 мкг/кг вызывает развитие дисбиоза в слизистой оболочке тонкой кишки, более выраженного при большой дозе препарата. Гистологическое исследование тканей глаза крыс, получавших ЛПС, свидетельствует о глубоких изменениях сосудов сетчатки, аналогичных тем, что возникают при дисбиозе кишечника.

Ключевые слова: дисбиоз, липополисахарид, кишка, сетчатка глаза.

Более 100 лет тому назад И.И. Мечников предвидел участие микробного фактора в патогенезе неинфекционных заболеваний [9, 12]. В последнее время появилось достаточно много публикаций, в которых показана роль микроорганизмов в развитии атеросклероза [1], сахарного диабета [13], миокардита [2, 12], гастрита [3].

Экспериментальные и клинические исследования показали, что в механизме патогенного действия микроорганизмов, в частности, условно-патогенных, существенная роль принадлежит эндотоксину (липополисахариду) [8, 15]. Он находится в наружной оболочке грамотрицательных бактерий, после отмирания которых высвобождается и сравнительно легко поступает в системный кровоток [14].

Липополисахарид (ЛПС) обладает очень широким спектром биологического действия, вызывая активацию нейтрофилов, купферовских клеток, воздействуя на эндотелиоциты [6]. Прямое и опосредованное действие ЛПС в значительной степени предопределяет характер и тяжесть сосудистых нарушений в организме, которые наблюдаются при дисбактериозах [10]. Сетчатка глаза необычайно чувствительна к микробной интоксикации [4, 11].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния на степень кишечного дисбиоза и на сетчатку глаза крыс различных концентраций препарата ЛПС из *Escherichia coli*.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на 90 крысах самках линии Вистар в возрасте 13 месяцев (живая масса 280–300 г), распределенных на 9 групп: первая группа (1) — интактные (контроль); вторая (2), третья (3), четвертая (4) и пятая (5) группы получали внутримышечно ЛПС в дозе 6,6 мкг/кг ежедневно, шестая (6), седьмая (7), восьмая (8) и девятая (9) группы получали ЛПС в дозе 200 мкг/кг. Использовали ЛПС из *E. coli* 0111:B4, очищенный фенольной экстракцией (производитель «Sigma-Aldrich», США).

Животных умерщвляли под тиопенталовым наркозом через 1 сутки (2 и 6 группы), через 3 суток (3 и 7 группы), через 7 дней (4 и 8 группы) и через 14 дней (5 и 9 группы). Выделяли слизистую оболочку тонкой кишки и замораживали до исследования при температуре минус 30 °С. Энуклеировали глаза и фиксировали их в 10%-ном нейтральном формалине, используя в дальнейшем для гистологического исследования. Глазное яблоко заключали в парафин, парафиновые среды окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон.

Из слизистой оболочки тонкой кишки готовили гомогенат на физрастворе, в котором определяли активность уреазы [5] и лизоцима [7]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза (дисбактериоза) [16].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты определения степени дисбиоза в слизистой тонкой кишки. Из этих данных видно, что большие дозы ЛПС (200 мкг/кг) сразу же (с первого дня) вызывают резкое увеличение степени дисбиоза, определяемое, главным образом, весьма значительным снижением уровня кишечного лизоцима — основного фактора неспецифического иммунитета [15].

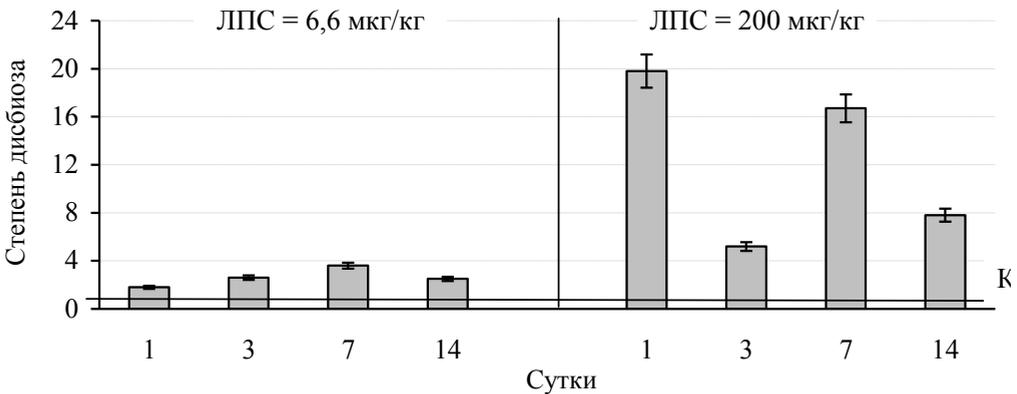


Рис. 1. Влияние ЛПС на степень дисбиоза слизистой оболочки тонкой кишки крыс 1, 3, 7 и 14 — число дней после введения ЛПС; К — контроль.

Fig. 1. LPS influence upon the degree of dysbiosis of mucous membrane of small intestine in rats

1, 3, 7, 14 — number of days after introduction of LPS; K — control.

При гистологическом исследовании тканей глаза, в частности, сетчатой оболочки удалось определить выраженные патологические изменения преимущественно слоя ганглиозных клеток. Характер патологических изменений проявляется развитием интенсивной вакуольной дегенерации ганглиозных клеток, дезинтеграции этого слоя и отеком нервных волокон (рис. 2).

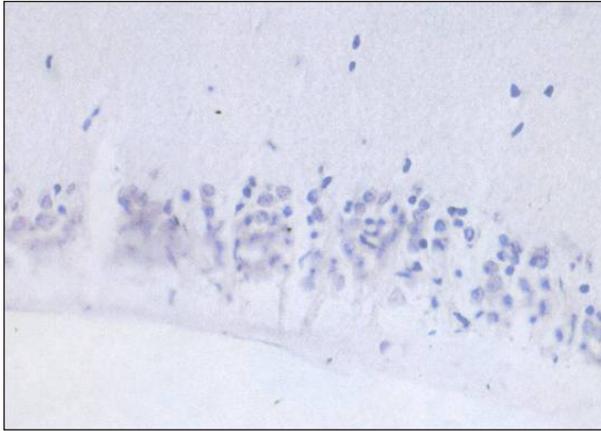


Рис. 2. Интенсивная вакуольная дегенерация ганглиозных клеток, сопровождающаяся дезинтеграцией слоя ганглиозных клеток и отеком нервных волокон.
Гематоксилин-эозин. $\times 400$.

Fig. 2. The intensive vacuole degeneration of ganglionic cells, followed by disintegration of ganglionic cells layer and edema of nerve fibers.
Hematoxylin-eosin. $\times 400$.

Появляются обширные кистевидные полости, заполненные серозным содержимым (рис. 3).

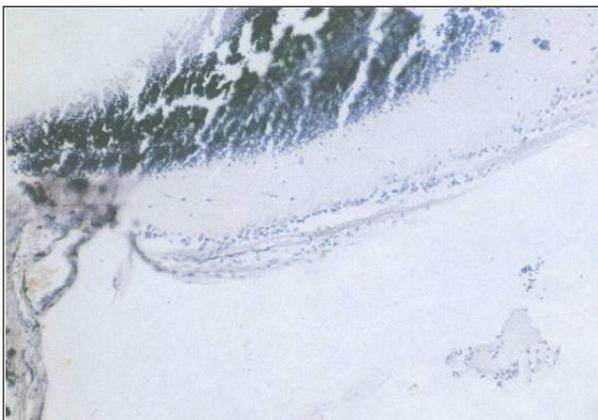


Рис. 3. Кистевидные полости, расслаивающие слой нервных волокон сетчатки и заполненные серозным содержимым.
Гематоксилин-эозин. $\times 400$.

Fig. 3. Cystic cavities, stratifying the nerve fibers retina layer and filled with serous contents. Hematoxylin-eosin. $\times 400$.

При этом определяется клеточный полиморфизм, связанный с кариопикнозом части клеток. Слой нервных волокон приобретает сетчатый вид. В ряде случаев видно расслоение этого слоя, его разрывы. При этом стекловидное тело проникает между слоями сетчатки (рис. 4 и 5).

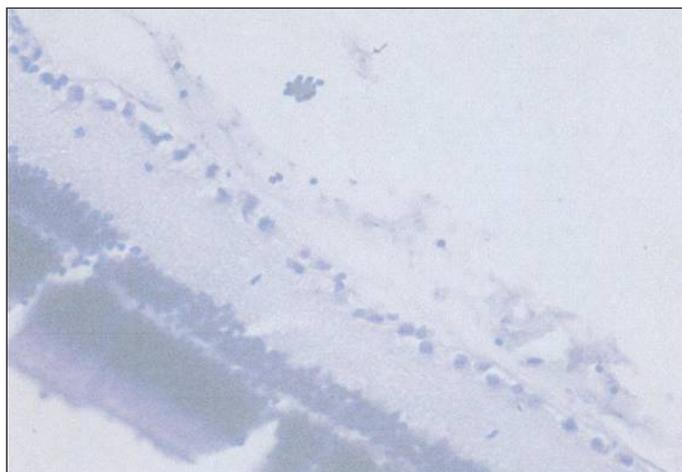


Рис. 4. Расслоение слоя нервных волокон, его разрыв.
Деструктивные изменения преретинальных слоев стекловидного тела.
Гематоксилин-эозин. $\times 180$.

Fig.4. Stratifying of the nerve fibers layer, its rupture.
The destructive changes of preretinal layers of vitreous body.
Hematoxylin-eosin. $\times 180$.

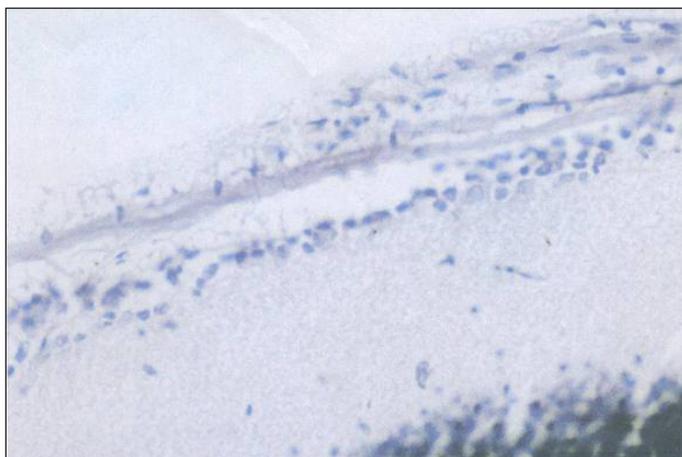
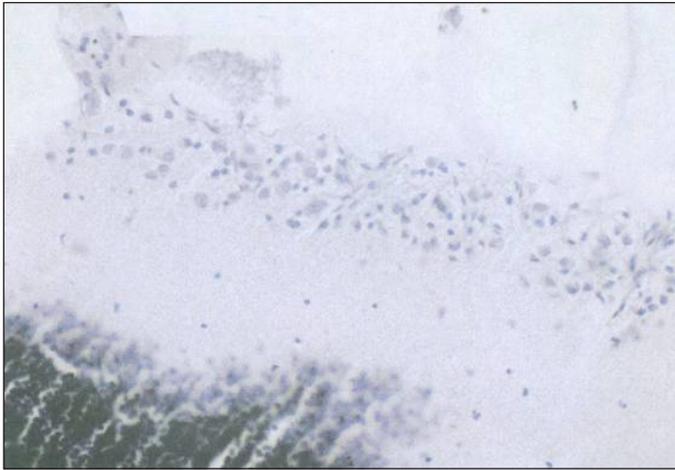


Рис. 5. Глубокая вакуольная дегенерация ганглиозных клеток
сетчатой оболочки, расслоение слоя нервных волокон.
Гематоксилин-эозин. $\times 180$.

Fig. 5. Deep vacuole degeneration of retina ganglionic cells,
stratifying of the nerve fibers layer.
Hematoxylin-eosin. $\times 180$.

Изменения проявляются в преретинальных слоях стекловидного тела. Сводятся они к конденсации стекловидного тела, появлению в нем клеточных элементов, при этом исчезает внутренняя пограничная мембрана (рис. 6).



**Рис. 6. Конденсации стекловидного тела и появление в нем клеточных элементов.
Деструкция внутренней пограничной мембраны.
Гематоксилин-эозин. $\times 180$.**

**Fig. 6. Condensation of vitreous body and appearance of cellular elements in it.
Destruction of inner limiting membrane. Hematoxylin-eosin. $\times 180$.**

Патологические изменения выявляются и в кровеносных сосудах сетчатки. Стенка части сосудов гомогенизирована, исчезает эндотелиальная выстилка. В просветах некоторых сосудов определяются тромбы (рис. 7 и 8).



**Рис. 7. Гомогенизация стенки артериолы сетчатки, сопровождающаяся
исчезновением эндотелиальной выстилки.
Тромбирование просвета сосуда. Гематоксилин-эозин. $\times 180$.**

**Fig. 7. Homogenization of the arteriole retina wall, accompanied by disappearance
of endothelial lining. Thrombosing of vascular lumen.
Hematoxylin-eosin. $\times 180$.**

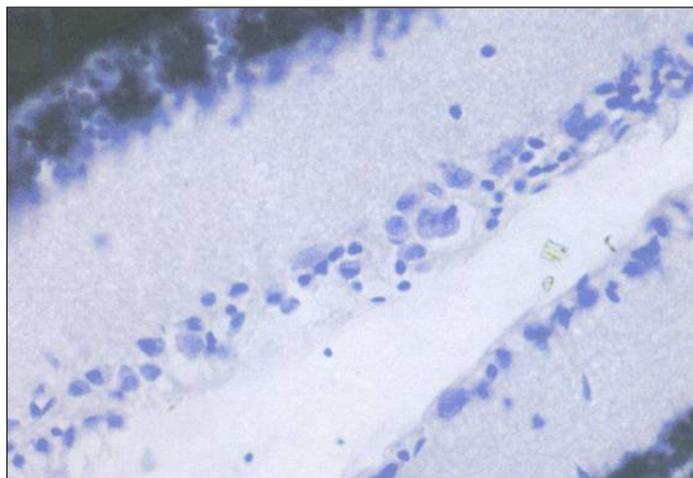


Рис. 8. Вакуольная дегенерация ганглиозных клеток сетчатой оболочки, тромбоз кровеносного сосуда, сопровождающийся деструкцией стенки сосуда. Гематоксилин-эозин. х400.

Fig. 8. The vacuole degeneration of ganglionic cells of retinal membrane, thrombosis of blood vessel, accompanied by destruction of vascular wall. Hematoxylin-eosin. x400.

Для гистологического исследования были использованы глаза животных 5-й группы (6,6 мкг/кг ЛПС, 14-й день) и 9-й группы (200 мкг/кг ЛПС, 14-й день). К нашему удивлению, гистологическая картина нарушений оказалась весьма сходной для этих двух разных концентраций эндотоксина.

Таким образом, внутримышечное введение ЛПС из *E. coli* вызывает развитие дисбиоза в слизистой тонкой кишки, значительно более выраженное при большой дозе препарата.

Гистологическое исследование показывает глубокие изменения в глазу, проявляющиеся отеком, сосудистыми расстройствами, изменениями стекловидного тела, причем не выявлено существенных различий в зависимости от дозы эндотоксина. Можно полагать, что дисбиотические нарушения в глазу определяются, в основном, действием липополисахарида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алибек К., Гречаный Л., Клименко Т., Пашкова А. Пятая революция в медицине: о роли инфекций в патогенезе старения и хронических болезней человека // Лікарська справа. Врачебное дело. — 2008. — № 1–2. — С. 3–30.

2. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации // ЖМЭИ. — 2010. — № 1. — С. 92–100.

3. Бродов Л.Е., Кареткина Г.Н., Ющук Н.Д. и др. Пищевые токсико-инфекции у больных сахарным диабетом // Терапевтический архив. — 1986. — Т. 58, № 10. — С. 48–51.

4. *Вышегуров Я.Х., Аниховская И.А., Батманов Ю.Е., Яковлев М.Ю.* Кишечный эндотоксин в патогенезе воспалительной патологии глаз и антиэндотоксиновая составляющая ее лечения // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2007. — № 1. — С. 12–14.
5. *Гаврикова Л.М., Сегень И.Т.* Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области // Стоматология. — 1996. — Спец. вып. — С. 49–50.
6. *Леванова Л.А., Алешкин В.А., Воробьев А.А. и др.* Особенности биологических свойств условно-патогенных бактерий, определяющих характер дисбиотических нарушений в составе нормальной микрофлоры толстой кишки // ЖМЭИ. — 2002. — № 5. — С. 48–53.
7. *Левицкий А.П.* Лизоцим вместо антибиотиков. — Одесса: КП ОГТ, 2005. — 74 с.
8. *Лыкова Е.А., Бондаренко В.М., Воробьев А.А., Суджан Е.В., Минаев В.И., Маликов В.Е.* Бактериальная эндотоксинемия у детей с дисбиозом кишечника // ЖМЭИ. — 1999. — № 3. — С. 67–70.
9. *Парфенов А.И.* Системные проявления болезни кишечника // Клиническая медицина. — 2001. — № 4. — С. 9–12.
10. *Петухов В.А.* Дисбиоз, эндотоксиновая агрессия, нарушение функций печени и дисфункция эндотелия в хирургии. Современный взгляд на проблему // Трудный пациент (архив). — 2006. — № 4. — С. 25.
11. *Порядин Г.В., Обрубов М.А., Беспалюк Ю.Г. и др.* Патофизиологические механизмы и особенности патологии глаз при системных заболеваниях кишечника // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2008. — № 4. — С. 28–31.
12. *Семенов Б.Ф., Зверев В.В.* Вакцинопрофилактика обострений хронической соматической патологии в группах риска // ЖМЭИ. — 2010. — № 1. — С. 86–92.
13. *Смирнов В.В., Карраа Л., Кукса В.П.* Катамнестическая характеристика детей, заболевших инсулинозависимым сахарным диабетом в раннем возрасте // Медицинский научный и учебно-методический журнал. — 2007. — № 38. — С. 126–141.
14. *Яковлев М.Ю.* Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиология человека. — 2003. — Т. 29, № 4. — С. 98–109.
15. *Янковский Д.С.* Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. — К.: Эксперт ЛТД, 2005. — 362 с.
16. *Пат.* 43140 Україна, МПК (2009) G 01 N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / А.П. Левицький, О.В. Деньга, І.О. Селіванська [та ін.]. — № U200815092, заявл. 26.12.2008; опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.

А.П. Левицький¹, В.В. Віт², Ю.В. Цисельський³, І.О. Селіванська¹

¹Інститут стоматології АМН України, вул. Ришельєвська, 11, Одеса, 65026, Україна, тел.: +38 (048) 728 24 61, e-mail: stomat@paco.net

²Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В.П. Філатова АМН України, Французький б-р, 49/51, Одеса, 65061, Україна

³Одеська обласна клінічна лікарня МОЗ України, вул. Заболотного 26/32, Одеса, 65025, Україна, тел.: +38 (048) 755 83 93

ВПЛИВ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ *ESCHERICHIA COLI* НА СТУПІНЬ КИШКОВОГО ДИСБІОЗУ ТА НА СТАН СІТКІВКИ ОКА ЩУРІВ

Реферат

Введення щурам ліпополісахариду (ЛПС) *E. coli* в дозах 6,6 і 200 мкг/кг викликає розвиток дисбіозу в слизовій оболонці тонкої кишки, більш вираженого за великої дози препарату. Гістологічне дослідження тканин ока щурів, які отримували ЛПС, свідчить про глибокі зміни судин сітківки, аналогічні тим, що виникають за кишкового дисбіозу.

К л ю ч о в і с л о в а : дисбіоз, ліпополісахарид, кишка, сітківка ока.

A.P. Levitsky¹, V.V. Vit², Yu.V. Tsyselsky³, I.A. Selivansky¹

¹The Institute of Dentistry of the AMS of Ukraine, 11, Rischelevska Str., Odesa, 65026, Ukraine, tel.: +38 (048) 728 24 61, e-mail: stomat@paco.net

²The Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy after Filatov V.P. of the AMS of Ukraine, 49/51, Frantsuzskij Blvrd, Odesa, 65061, Ukraine

³Odesa Regional Clinical Hospital of MH of Ukraine, 26/32, Zabolotnogo Str., Odesa, 65025, Ukraine, tel.: +38 (048) 755 83 93

THE INFLUENCE OF LIPOPOLYSACCHARIDE *ESCHERICHIA COLI* UPON THE DEGREE OF INTESTINAL DISBIOSIS AND RETINA STATE IN RATS

Summary

The intramuscular introduction to rats of lipopolysaccharide (LPS) *E. coli* dosed by 6.6 or 200 mkg/kg causes the development of disbiosis in mucous membrane of small intestine, more expressed at the high dose of preparation. The histological study of the retina tissues of rats received LPS, testifies to the deep changes in retina vessels similar to the ones appearing at disbiosis of the intestine.

К e y w o r d s : disbiosis, lipopolysaccharide, intestine, retina.

